

动 物 学 研 究 1998, 19 (4): 301~307 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

我国大陆部分地区黑腹果蝇群体线粒体DNA多态性研究*

蒙世杰 李笑松
(西北大学生物系 西安 710069)

摘 要 用10种限制性内切酶对我国大陆5个地方(武汉、长沙、桂林、南宁和北海), 6个黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)群体的线粒体DNA进行了限制片段长度多态性分析。在56个单雌系中, 发现了25种不同的限制类型。应用Nei等(1979)的数学模型和UPG法, 构建了限制类型间和群体间的系统进化树。结果发现: 所研究的群体分为3个类群, 对应于南、中和北3个亚热带地区; 除长沙玉合醋厂外, 所有采自果品市场群体的群体内遗传距离(π_x)表现出随纬度上升而增加的趋势。这些结果为探讨我国大陆黑腹果蝇的起源和演化提供了重要的依据。

关键词 黑腹果蝇, 线粒体DNA, 多态性, 限制性类型
中图分类号 Q969.462.2

限制性片段长度多态性(RFLP)技术, 以其简便、快速、重复性好, 而成为分子标记和遗传分析的重要手段, 其应用已渗透到生命科学的许多研究领域(刘武等, 1995; 张亚平等, 1992; 林兵等, 1990; Avise, 1991)。线粒体DNA(mtDNA)具有母性遗传、单倍性、分子量小、拷贝数多、进化速度快等特点(Avise等, 1987; Avise, 1991), 是分子遗传学家和进化遗传学家应用RFLP技术, 探讨种系发生、物种起源和群体进化的理想分子(Brown, 1979; Bermingham等, 1986; Wilson等, 1985)。

黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)是研究遗传和进化的经典材料, 国外对其研究十分活跃, 涉及的领域也十分广泛。我国对黑腹果蝇的研究极为薄弱(蒙世杰等, 1987, 1993, 1997)。关于我国大陆黑腹果蝇的起源和演化的研究尚未见报道。本文应用RFLP技术, 对我国部分地区黑腹果蝇的mtDNA的多态性进行了分析, 旨在为探讨上述问题, 在分子水平上提供一些有益的线索。

1 材料和方法

1.1 动物来源

黑腹果蝇的采集资料见表1。

1.2 单雌系的建立

将各地采集的当代果蝇经分类鉴定, 挑出黑腹果蝇的雌蝇, 单只放于盛有玉米粉琼脂糖的普通果蝇培养基的指管中, 于(22±1)℃下培养, 产生的后代即为一个单雌系。

---

*陕西自然科学基金资助项目
本文1997-06-11收到, 1998-03-31修回

表 1 果蝇采集资料

Table 1 Collection information of flies used in this study

地方群体	纬度	时间	地 点	单雌系数目
武汉	30.7	1994-10	果品批发市场	10
长沙	28.4	1994-10	果品批发市场	12
玉合	28.4	1994-10	长沙玉合醋厂	8
桂林	25.2	1994-10	果品批发市场	11
南宁	22.8	1994-10	果品批发市场	10
北海	21.5	1994-10	果品批发市场	5

1.3 mtDNA 的提取和纯化

依照王文等(1993)介绍的方法，稍作调整。

1.4 酶切、电泳及拍照

酶切和电泳均按常规方法(王文等，1994)。溴化乙锭染色，紫外灯下观察和拍照。

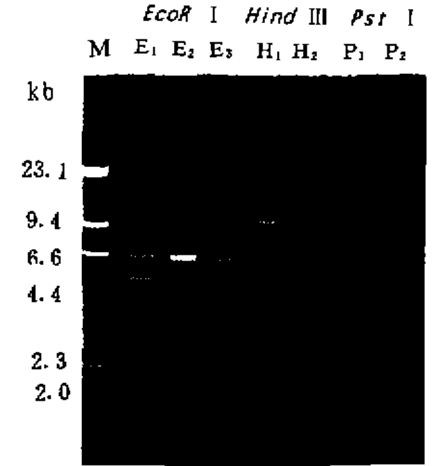


图 1 黑腹果蝇 mtDNA 酶切图谱

Fig. 1 Rrestriction patterns for *D. melanogaster* mtDNA

图 2 25 种限制类型系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree for 25 genetypes of mtDNA

2 结果及分析

2.1 限制性图谱

用 10 种限制性内切酶 *Bam*H Ⅰ、*Eco*R Ⅰ、*Eco*R Ⅴ、*Hin*dⅢ、*Hpa* Ⅰ、*Pst* Ⅰ、*Pvu* Ⅰ、*Sac* Ⅰ、*Xba* Ⅰ和 *Xho* Ⅰ，对 6 个黑腹果蝇群体 56 个单雌系的 mtDNA 进行了酶切图谱分析。综合每种酶切情况，在 56 个单雌系中，共检出 25 种不同的限制性类型。图 1 给出了 3 种酶的酶切片段长度多态性电泳图谱。25 种限制类型的单雌系在各地方群体中的分布见表 2。

2.2 数据处理

按 Nei 等 (1979)数学模型计算的群体内差异(π_i)、群体间差异(π_{ij})和净群体间差异(d_{ij})见表 3。

表 2　25 种限制性类型单雌系在各群体中的频数

Table 2　Frequency of 25 genotype isofemale lines in each population

群体	限制性类型																									总计
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
武汉	1		2	1			1								1	1			1			1	1			10
长沙			2	3											2					1	2		1	1		12
玉合			2	2		1							1		2											8
桂林		1	2	1						1	1	1			2			1							1	11
南宁			2	1				2	1					1	2		1									10
北海			1	1	1								1		1											5
合计	1	1	11	9	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	10	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	56

表 3　群体内差异(π_i标黑线)，群体间差异(π_{ij}右上方)和净群体间差异(d_{ij}左下方)

Table 3　Variation within population (π_i with line), variation between populations (π_{ij} above the diagonal) and net variation between populations (d_{ij} below the diaganal) $\times 10^{-4}$

	北海	南宁	桂林	玉合	长沙	武汉
北海	6.325	13.45	12.94	10.96	25.48	30.22
南宁	5.883	8.809	17.32	15.21	23.69	33.16
桂林	5.631	8.771	8.293	12.01	22.68	30.50
玉合	3.901	6.903	3.967	7.785	20.27	26.73
长沙	14.95	11.87	11.12	8.967	14.83	32.61
武汉	18.19	19.89	17.79	13.98	16.53	17.73

2.3　系统树

根据 25 种限制类型间的遗传距离和表 3 中的数据，运用 UPG 法构建出的各限制类型间和各群体间的系统进化树分别见图 2 和图 3。以表 3 中果品批发市场的 5 个群体的 π_i(群体内差异又称群体内多态度)对纬度作图得图 4。

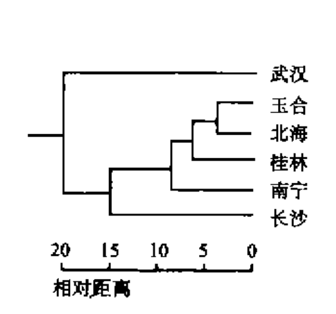


图 3　6 个黑腹果蝇群体系统进化树

Fig. 3　Phylogenctic tree for six populations

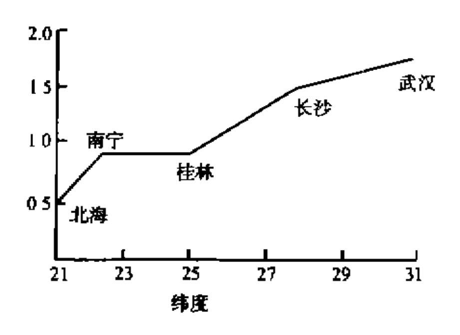


图 4　群体内多态度随纬度的变化

Fig. 4　Change of polymorphism within population with latitude

2.4　结果分析

从表 2 可以发现，各地群体都有各自独特的一些限制类型，又都含有 3 种共享的类型(3、4 和 15)，且共享类型的频率最高，占总类型的 53.57%。由表 3 可知，武汉与广西诸群体间的遗传距离最大，其次为武汉与长沙、长沙与广西诸群体的遗传距离较小。图 3 更直观地显示了各群体的相对遗传距离和遗传分化与分支次序。然而，长沙玉合醋厂群体与

长沙果品市场群体的遗传距离（20.27×10^{-4}）却远大于与广西诸群体间的距离（平均为12.73×10^{-4}）。从图3可以看出玉合醋厂群体与广西诸群体首先聚类，而后与长沙果品市场群体聚类。由表3和图4不难发现，采自果品批发市场的5个群体，其群体内差异，具有随纬度增加而增大的趋势。

3 讨论

对于果蝇这一类缺乏化石记录的类群(Nei等，1979)，用现生群体的遗传分化结合地理分布来探讨其起源和演化，成为常用的有效手段(王文等，1994；贾振宇等，1995；Desalle等，1987)。由于mtDNA进化快，一级结构高度歧异，有效群体小(为核DNA的1／4)、随机漂变的地方差异显著(Brown，1983；Rand等，1994)、因此，群体间解析的灵敏度很高。本研究表明、各地理群体既有其独特的又有其共同的类型(见表2)。这种既间断又连续，既相异又相似的关系、为追溯我国黑腹果蝇演化历史提供了重要的线索。可以设想，这些地理群体是由同一祖先群体演化而来。各群体共享的3、4、15三种限制类型，可能是祖先群体中存在的类型、也是最古老的类型。

关于黑腹果蝇的起源和演化历史，David等(1988)根据地理分布总结了染色体重排和等位酶多态性的研究资料，将世界各地的群体分为3类，一类是分布在热带非洲的最古老的祖先群体，另一类是由祖先群体向东和向北扩散而产生的亚洲和欧洲群体，再一类是由人类活动引入的新生群体，包括澳洲和北美洲群体。并认为北美洲群体是经冷适应(coldadapted)的欧洲群体入侵而形成的。Hale等(1987，1991)通过对世界范围内18个地方群体，144个黑腹果蝇单雌系的mtDNA多态性研究的结果，将所有群体按经度分为3类，一类是非-欧群体，具有高度的多态性和中度的趋异；另一类是远东群体，具有中度的多态性和最大的趋异；再一类是西半球群体，其多态性和趋异都最低。他们认为黑腹果蝇起源于热带非洲，但也不排除欧洲；远东的群体也相当古老，这些群体可能来源于一次入侵；西半球群体并非经欧洲冷适应后入侵北美洲的，而是由非洲直接入侵形成的，西半球群体最为年轻。Hale等(1991)对远东5个群体(印度瓦拉纳西、越南胡志明市、中国台湾台北、韩国汉城、日本石万)的44个单雌系mtDNA多态性研究的结果，限制类型间的变异幅度为$1.09\times10^{-3}\sim11.1\times10^{-3}$、群体间平均遗传距离为$43.98\times10^{-4}$，群体内平均遗传距离为$20.3\times10^{-4}$。这些差异均比本研究结果($1.21\times10^{-4}\sim65.3\times10^{-4}$、$21.8\times10^{-4}$和$10.6\times10^{-4}$)要大。很容易理解这两个研究结果的差异，是由于群体分布的范围大小不同所引起的，愈是地理相近的群体其差异愈小。

由上面的资料可知，远东的群体和中国大陆群体很可能是由热带非洲的祖先群体向东迁移到东南亚，然后向北扩散而逐步形成的。据Solignac等(1986)对黑腹果蝇亚群研究所得的mtDNA进化速率为每百万年产生0.24%～6.25%的核苷酸差异，可计算出远东群体分歧年代和我国大陆群体分歧年代分别为45～463万年和10～270万年。在这样长的时间跨度里，气候曾出现过多次全球性的冷期与暖期的交替，特别是第4纪的新构造运动产生了几次全球性的海退，在岛屿之间形成陆桥，使果蝇跨岛屿扩散成为可能。

东南亚地区的黑腹果蝇入侵我国大陆南部沿海地区之后，便开始向北逐渐扩散。本研究区域，南起南部沿海的北海市(北纬21.5°)，北达大陆腹地武汉地区(北纬30.7°)，纬度跨越较大。众所周知，纬度对温度、湿度、光照以及植被类型和动物的分布等生态因素

都有重要的影响。不同地理纬度生态环境的异质性对生物会产生歧化选择，从而引起不同纬度的地理群体遗传结构的改变。图 4 清楚地显示，群体内 mtDNA 的差异随纬度的增加而增大。这对探讨我国黑腹果蝇群体的演化过程具有重要的意义。无疑温暖湿润的广西亚热带气候对来自于热带的黑腹果蝇十分有利。尽管广西群体内限制类型较多，有 15 种，占总数的 60%，但各类型间的差异较小(0.7807×10^{-3})，说明在优越或变化小的环境中，群体内遗传变异较小。随着由南亚热带的广西向北扩散，黑腹果蝇群体进入中亚热带(长沙)和北亚热带(武汉)季风气候地区，栖息环境变化较大。由于随机遗传漂变和奠基者效应，群体内原有的限制类型便会减少，但在新的生态环境的长期作用下，又可产生一些新的特异的地方类型，从而使群体内遗传距离明显加大，长沙为 1.483×10^{-3}，武汉为 1.773×10^{-3}。群体内遗传距离的这种变化促进了地方群体间的遗传分化，无疑这对群体的演化具有重要的意义。

然而，一般认为 mtDNA 限制类型的变异属中性突变，即在选择上没有优劣之分，各类型个体在适应性上没有差别。但是从本结果可以看出，所研究区域的这些群体明显地分为 3 个聚类群。分属于广西、长沙和武汉，分别对应于南、中和北 3 个亚热带气候地区。群体内和群体间的遗传距离(见表 3)，也显然与地理纬度和气候差异密切相关。尽管还缺乏 mtDNA 多态性在适应性上的直接证据，但自然选择对地方群体 mtDNA 的遗传组成和分化的影响是显而易见的。也许在个体水平上，不同 mtDNA 的个体在适应性上没有明显的差异，但在群体水平上，mtDNA 的多态性对群体的稳定和群体多样性的维持具有潜在的作用。是否种内 mtDNA 的变异在选择上是中性的，近年来不少学者提出异议。一些学者通过对果蝇的实验群体和自然群体的研究，认为存在着非中性选择(Fos 等，1990；Nigro 等，1990；Rand 等，1994)。然而由于争论的双方都缺乏直接的令人信服的实验证据，目前尚无定论(Hale 等，1991)。

值得注意的是长沙玉合醋厂的群体，如图 3 所示，它并没有和当地长沙果品市场群体直接聚类，而是首先与广西群体聚类。类似的现象也见于我国的黑果蝇(贾振宇等，1995)。由表 3 不难发现，它的 π_i、π_{ij} 和 d_{ij} 的值与广西诸群体，尤其与北海群体几乎一致，而与长沙果品市场群体差别较大。显然，这与其特殊的栖息环境有关。酿醋车间食物丰富、温暖潮湿，环境稳定单纯、与广西气候相似，这种环境对南方迁来的黑腹果蝇非常有利。尽管遗传漂变、群体内多态性较低，但原有的类型容易被保存，因此表现出与广西诸群体，特别是与北海群体极大的遗传相似性。而当地果品市场的环境则不同，易受大气候影响，变化较大。加之随外地果品的输入、群体基因交流频繁，从而使群体遗传结构变化较大，形成同一地区不同生境的群体在遗传结构上的较大差异。由此可见，群体遗传距离随纬度或气候带的变化，并非是一种简单的线性关系，特殊的小生境对群体的遗传组成的影响也很重要，应予以充分注意。

综上所述，本研究为探讨我国黑腹果蝇的起源和演化提供了分子水平上的资料。但结果仅是初步的，而扩大研究地域，增加样本，注意样本的连续性，系统地比较群体间 mtDNA 的差异，对了解我国黑腹果蝇的进化机理将是十分必要的。

参 考 文 献

王 文，施立明，1993. 一种改进的动物线粒体DNA提取方法. 动物学研究，14(3)：197～198.

王 文，凌发瑶，施立明，1994. 银额果蝇自然群体中mtDNA多态性研究. 遗传学报，21(4)：263～274.

刘 武，叶 健，1995. DNA与人类起源和演化. 人类学报，14(3)：266～281.

张亚平，施立明，1992. 动物线粒体的研究概况. 动物学研究，13(3)：289～298.

贾振宇，朱定良，庚镇城，青冢正志，1995. 中国大陆若干群体的黑果蝇的线粒体DNA多态研究. 动物学研究，16(1)：65～73.

蒙世杰，陈新全，1989. 黑腹果蝇P转座因子研究I. 我国黑腹果蝇的P-M测定及其地理分布. 遗传学报，16(2)：118～124.

蒙世杰，吕志东，曾庆韬，1993. 我国东部沿海地区黑腹果蝇醇脱氢酶座位的多态性和渐变群研究. 西北大学学报，23(3)：197～202.

蒙世杰，张克雄，1997. 郑州黑腹果蝇自然群体P-M细胞型多态性研究. 西北大学学报，27(5)：452～456.

Avise J C, Arnold J, Ball R M, *et al*, 1987. Intraspeific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **18**: 489–522.

Avise J C, 1991. Ten unorthodox perspectives on evolution promtpted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Ann. Rev. Genet.*, **25**: 45–69.

Brown W M, 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *PNAS. USA.*, **76**: 1967–1971.

Brown W M, 1983. Evolution of animal mtDNA. In: Nei M, Koehn R K. eds. Evolution of genes and proteins. 62–88.

Bermingham E, Avise J C. 1986. Molecular zoogeography of fresh-water fishes in the southeastern United States. *Genetics*, **113**: 939–965.

David J R, Capy P. 1988. Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations. *Trends Genet*, **4**: 106–111.

DeSelle R, Templeton I, Mori S *et al*, 1987. Temporal and spatial heterogeneity of mtDNA polymorphisms in natural populations of *Drosophila mercatorum*. *Genetics*, **116**: 215–223.

Fos M, Dominguez A, Latorre A, Moya A. 1990. Mitochondrial DNA evolution in experimental populations of *Drosophila subobscura*. *PNAS. USA*, **87**: 4198–4201.

Hale L R, Singh R S, 1987 Mitochondrial DNA variation and genetic structure in populations of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 622–637.

Hale L R, Singh R S, 1991. A comprehesive study of genic variation in natural populations of *Drosophila melanogaster*. Ⅳ. Mitochondrial DNA variation and the role of history vs. Selection in the genetic structure of geographic populations. *Genetics*, **129**: 103–117

Nei M, Li W H, 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucluases. *PNAS. USA.*, **76**: 5269–5273.

Nigro L, Prout T, 1990. Is there selection on RFLP differences in mitochondrial DNA? *Genetics*, **125**: 551–555.

Rand D M, Dorfsman M, Kann L M, 1994. Neutral and non-neutral evolution of *Drosophila* mitochondrial DNA. *Genetics*, **138**: 741–756.

Solignac M, Monnerot I C, 1986. Mitochondrial DNA evolution in the *melanogaster* specties subgroup of *Drosophila*. *J. Mol. Evol.*, **23**: 31–40.

Wilson A C, Cann R L, Corr S M *et al*, 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol J. Linn. Soc.*, **26**: 375–400.

MITOCHONDRIAL DNA POLYMORPHISM OF SIX *Drosophila melanogaster* POPULATIONS IN CHINESE MAINLAND*

MENG Shi-jie LI Xiao-song

(*Department of Biology, Northwest University, Xian* 710069)

Abstract

The RLFPs of mtDNA from six *Drosophila melanogaster* populations in five places (Wuhan, Changsha, Guilin, Nanning and Beihai) were analysed with ten different restriction enzymes, 25 restriction types were observed among 56 isofemale lines. By using Nei and Li's mathematic model and UPG method, the phylogenetic trees for both the restriction types and populations were constructed based on their genetic distances. Both of the trees showed three cluster groups, corresponding to three climalic zones: the south, middle and north subtropical zone respectively. The genetic distance within population (π_i) except a vinegar plant population, increased with the geographic latitude. These results provid important information to study the origin and evolution of Chinese *D. melanogaster*.

Key words *Drosophila melanogaster*, mtDNA, Polymorphism, Restriction type

* This project is supported by Shaanxi Natural Science Fund.